

Znaczenie mikrokrażenia w nadciśnieniu tętniczym i możliwości jego oceny na podstawie badania mikrounaczynienia skórneg

The role of microcirculation in hypertension and its assessment based on skin microvasculature function testing

Summary

Dysfunction of microcirculation play a key role in the pathophysiology of many diseases. Microvascular changes were also observed in hypertension. Arteriolar remodeling and rarefaction contribute to increase of vascular resistance in hypertensive subjects. However, microvascular effects may be modified by vasomotion, which cause flow fluctuations. Analysis of the flowmotion may serve an additional diagnostic landmark in hypertension. The study of microcirculation function can be performed in humans using laser Doppler flowmetry of the skin. The method provides assesment of postocclusive, acetylcholine iontophoresis, local thermal hyperemia and also flowmotion. The laser Doppler tests may be clinically useful for the global assesment of microvascular function.

key words: microcirculation, hypertension, laser Doppler flowmetry, flowmotion

Arterial Hypertension 2010, vol. 14, no 5, pages 395–410.

W codziennej praktyce klinicznej w ocenie zagrożenia tymi chorobami wykorzystuje się tradycyjne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego [2]. Jednak w połowie przypadków incydentów naczyniowych nie stwierdza się obecności uznanych czynników ryzyka, co powoduje ciągle poszukiwania nowych markerów ryzyka, wskaźników zmian naczyniowych czy uszkodzeń narządowych, które pozwalałyby wcześniej wkraczać z działaniami interwencyjnymi [3]. Jako marker ryzyka sercowo-naczyniowego rzadko wykorzystywano badania mikrounaczynienia [4], chociaż mikrokrażenie odgrywa kluczową rolę w patofizjologii wielu stanów chorobowych. Zmiany w naczyniach mikrounaczynienia obserwuje się we wstrząsie septycznym [5], niedotlenieniu [6], uszkodzeniu o typie niedotlenienie–reperfuzja [6, 7], podczas aktywacji układu immunologicznego [8] czy procesów krzepnięcia [9]. Zmiany te stwierdza się także w wielu innych jednostkach chorobowych, takich jak układowe choroby tkanki łącznej [10], cukrzyca [11], choroby nerek [12], jak również choroby układu sercowo-naczyniowego [7, 9], w tym w nadciśnieniu tętniczym [13, 14]. Zaburzenia w mikrounaczynieniu prowadzą do znacznych nieprawidłowości przepływów oraz pogarszają utlenowanie tkanek, co wiąże się z uszkodzeniem narządów i wpływa na rokowanie [7, 15]. Do niedawna ocenę morfologii i patofizjologii najmniejszych naczyń łożyska naczyniowego prowadzono wyłącznie w badaniach eksperymentalnych lub na modelach zwierzęcych [16]. Dostępność nowych technik badawczych stworzyła możliwość wykorzystania badania mikrokrażenia do diagnostyki i oceny leczenia różnych jednostek chorobowych także w warunkach klinicznych.

Wstęp

Choroby układu krążenia nadal stanowią wiodącą przyczynę chorobowości i śmiertelności [1].

Adres do korespondencji: dr n. med. Barbara Gryglewska
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii CM UJ
ul. Śniadeckich 10, 31–531 Kraków
tel.: (12) 424 88 00, faks: (12) 424 88 54
e-mail: bgrygle@su.krakow.pl



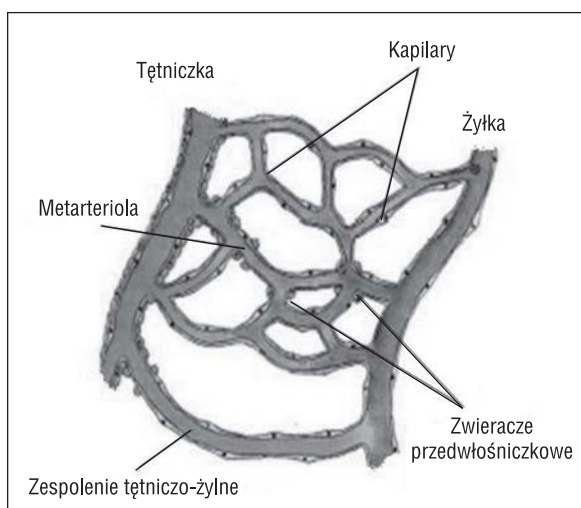
Copyright © 2010 Via Medica, ISSN 1428–5851

Budowa i funkcja mikrokrążenia

Cechy anatomiczne mikrokrążenia

Mikrokrążenie jest częścią układu krążenia zlokalizowaną między układem tętniczym i żylnym. Zazwyczaj zalicza się do niego naczynia o średnicy mniejszej niż $150\ \mu\text{m}$ [17–20]. Poza naczyniami włosowatymi obejmuje również tętniczki, drobne żyłki, naczynka chłonne oraz zespolenia tętniczo-żylne. Naczynia mikrokrążenia stanowią około 99% całkowitej liczby około 10^{11} naczyń krwionośnych dorosłego człowieka [21].

Tętniczka doprowadzająca krew do jednostki mikrokrążenia (ryc. 1) o średnicy około $100\ \mu\text{m}$ ma charakter hemodynamicznie końcowy — zamknięcie jej światła prowadzi do czynnościowego wyłączenia zaopatrywanego przez nią obszaru [19, 20, 22–24]. Odchodzące od niej drobniejsze ($10\text{--}20\ \mu\text{m}$) naczynia przedwłosowate mają okrężnie ułożone komórki mięśniowe tworzące zwieracze naczyń przedwłosowatych, które regulują przepływ przez daną włosniczkę. Między naczyniami tętniczymi i żylnymi znajdują się połączenia za pośrednictwem metarterioli, od których odchodzi sieć naczyń włosowatych oraz zespolenia tętniczo-żylne, z pominięciem sieci włosniczek [22–24]. Skurcz mięśni gładkich ściany zespolenia (unerwionych przez włókna nerwowe układu współczulnego) powoduje zamknięcie jego światła i napływ krwi do naczyń włosowatych z ominięciem całej sieci wymiany odżywczej. Zespolenia najliczniej występują w dystalnych częściach ciała, gdzie spełniają ważną rolę w termoregulacji.



Rycina 1. Naczynia mikrokrążenia

Figure 1. Vessels of microcirculation

Całkowitą powierzchnię wszystkich naczyń włosowatych szacuje się na około $300\ \text{m}^2$, ale w warunkach spoczynkowych tylko około 25% naczyń włosowatych jest otwartych [25–27]. Każdy milimetr sześcienny ciała zawiera przeciętnie 600 naczyń włosowatych. Zagęszczenie sieci kapilar zależy od stanu czynnościowego i jest różne w poszczególnych tkankach i narządach. Wysoka przemiana materii i zwiększone zapotrzebowanie na tlen w sercu, mózgu, wątrobie i nerkach powodują, że sieć naczyń włosowatych jest tam gęstsza niż w tkankach o mniej nasilonym metabolizmie [22, 27].

Fizjologiczna funkcja mikrokrążenia

Naczynia włosowate o średnicy $5\text{--}10\ \mu\text{m}$ i przeciętnej długości $750\ \mu\text{m}$ pełnią funkcję selektywnej bariery dyfuzyjnej dzięki budowie ściany zredukowanej do warstwy śródbłonka i otaczającej go błony podstawnej [21]. Wielkość dyfuzji zależy od przepuszczalności ściany naczynia włosowatego (naczynia o ścianie ciągłej, okienkowej, zatokowej), natomiast powierzchnia wymiany — od stanu zwieraczy przedwłosniczkowych wrażliwych na czynniki metaboliczne, hormonalne i nerwowe powodujące rozszerzenie lub skurcz naczyń. Wielkość przepływu zależy także od typu receptorów, ich gęstości i dystrybucji w naczyniach poszczególnych narządów [28].

W narządach o dużej przemianie materii, takich jak: przewód pokarmowy, serce, mózg czy nerki, tętniczki są słabo unerwione, a główną rolę odgrywa mechanizm autoregulacji oparty na ujemnym sprzężeniu zwrotnym względem stężenia metabolitów w danej tkance i powodujący toniczny skurcz mięśniówki gładkiej naczyń [16, 24, 26]. Kluczową rolę w mechanizmie miejscowej autoregulacji odgrywa także śródbłonek — jako źródło licznych mediatorów, z których najsilniejszymi czynnikami naczyniorozszerzającymi są tlenek azotu (NO , *nitric oxide*) i prostacyklina, a obkurczającymi — śródbłonkowy czynnik zwężający naczynia i endotelina. Zaburzenie autoregulacji na skutek zachwiania równowagi między substancjami o charakterze wazokonstrykcyjnym oraz wazodylatacyjnym może mieć duże znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania narządów. W skórze czy mięśniach, które charakteryzują się niskim metabolizmem spoczynkowym, umiarkowane zaburzenia w dostarczaniu tlenu nie mają tak dużego znaczenia klinicznego. Większe znaczenie ma ponadto regulacja przepływu przez pozazwojowe włókna układu współczulnego.

Dzięki budowie anatomicznej i fizjologicznej regulacji przepływu naczynia mikrokrążenia zapew-

niają sprawną wymianę dyfuzyjną gazów, metabolitów i elementów układu immunologicznego między krwią a wodną przestrzenią pozanaczyniową oraz sprawną regulację humoralną i termiczną [24, 26, 27]. Poza wymianą substancji odżywczych i metabolitów między krwią i tkankami do podstawowych funkcji mikrokążenia zalicza się ochronę przed znacznymi wahaniami ciśnienia hydrostatycznego w sieci kapilar, które mogłoby zaburzyć procesy dyfuzyjne, oraz zmniejszenie oporu obwodowego przez znaczny spadek ciśnienia hydrostatycznego.

Naczynia mikrokążenia charakteryzują się także specyficznymi cechami reologicznymi przepływu określanymi jako efekt Fahraeusa oraz efekt Fahraeusa-Lindquista [26, 27]. **Efekt Fahraeusa** jest związany z redystrybucją przepływu krwinek czerwonych do centrum naczynia, co zwiększa ich szybkość przepływu w stosunku do osocza oraz powoduje redukcję hematokrytu w drobnych naczyniach obwodowych. **Efekt Fahraeusa-Lindquista** wiąże się z obniżeniem lepkości krwi wraz ze zmniejszeniem wymiarów naczynia. Zależy on od zmniejszenia hematokrytu oraz od optymalnego ułożenia erytrocytów w świetle naczynia. Mikroreologia przepływu jest także modyfikowana właściwościami śródbłonkowej warstwy wierzchniej (ESL, *endothelial surface layer*) zbudowanej z glikokaliks, glikozaminoglikanów i zaabsorbowanych białek, które uniemożliwiają przepływ krwi i osocza w pobliżu ściany naczyniowej [29]. Śródbłonkowa warstwa wierzchnia bierze także udział w regulacji napięcia naczyniowego, wrażliwości śródbłonka na czynniki mechaniczne, wpływa na cechy dyfuzji w mikrokążeniu, interakcje komórek śródbłonka i krwi oraz uczestniczy w krzepnięciu, stanach zapalnych, angiogenezie i angioadaptacji.

Zmiany w mikrokążeniu związane z podwyższonym ciśnieniem tętniczym

Podstawowym mechanizmem hemodynamicznym odpowiedzialnym za stopniowy wzrost ciśnienia, szczególnie u osób młodych, jest zwiększenie oporu obwodowego. Wielkość oporu obwodowego w głównej mierze zależy od zmian w naczyniach oporowych, obejmujących małe tętnice o średnicy poniżej 300 μm (wg niektórych < 150 μm) oraz tętniczki przedwłośniczkowe, a więc naczynia sieci mikrokążenia [21, 26]. Zgodnie z równaniem francuskiego fizyka i fizjologa Poiseuille'a ($R = 8L\eta/\pi r^4$, gdzie R to opór naczyniowy, r — promień naczynia, L — długość naczynia, η — lepkość cieczy) wartość oporu naczyniowego jest wprost proporcjonalna

do długości naczynia i lepkości krwi, a odwrotnie proporcjonalna — do 4. potęgi promienia [21, 27]. Opór naczyniowy wynika więc z lepkości krwi oraz charakterystyki łożyska naczyniowego. Tętnice duże i średnie oraz naczynia żyłne charakteryzuje stosunkowo niski opór dla przepływu krwi. Coraz mniejsze wymiary naczyń przy ich zwiększonej liczbie powodują, że ich przekrój poprzeczny jest około 500 razy większy niż przekrój aorty, co w konsekwencji decyduje o wartości oporu [26]. W badaniach DeLano i wsp. [30] wykazano jednoznacznie, że 70–90% systemowego ciśnienia dociera do mikrokążenia, w którym jest generowany opór dla przepływu krwi.

Mechanizmy wzrostu oporu w nadciśnieniu tętniczym

Wzrost lepkości krwi stwierdzano u chorych z nadciśnieniem granicznym [31] i utrwalonym [32]. W analizie wieloczynnikowej ustalono, że lepkość krwi pełnej odpowiada za około 6% zmienności ciśnienia rozkurczowego i średniego [33]. Na lepkość wpływa także podatność krwinek czerwonych, która warunkuje ich zdolność do odkształcenia się w zależności od średnicy naczyń i pozycji w stosunku do innych elementów morfotycznych krwi, oraz nasilenie tendencji do agregacji komórek krwi [34]. Dla przepływów w obrębie mikrokążenia podatność erytrocytów jest ważniejsza niż lepkość krwi pełnej [35, 36]. Wzmoczona agregacja i zmniejszenie odkształcalności erytrocytów prowadzą do ograniczenia perfuzji i wymiany tlenowej w mikrokążeniu [26]. W badaniach doświadczalnych na szczurach SHR wykazano, że również liczba krwinek białych może znacząco zwiększyć lepkość krwi i istotnie wpłynąć na wartości ciśnienia [37].

Jednak w nadciśnieniu tętniczym zwiększenie oporu obwodowego zależy głównie od zmian obserwowanych w naczyniach mikrounaczynienia. Zmiany te mogą mieć zarówno charakter czynnościowy, jak i strukturalny [18–20]. Przy nagłym wzroście ciśnienia obserwuje się szybką i odwracalną wazokonstrykcję małych tętniczek oporowych, która nieodłącznie zależy od wzrostu napięcia miogenne [38]. Zgodnie z regułą Laplace'a stałe napięcie oddziałujące na ścianę będzie zachowane wtedy, gdy wzrostowi ciśnienia towarzyszy poszerzenie światła naczynia i/lub pogrubienie ściany. Duże tętnice adaptują się do podwyższonego ciśnienia nie tylko przestem, ale także poszerzeniem światła. Małe tętnice również reagują przebudową na wzrost ciśnienia. W 1996 roku Mulvany i wsp. [23] zaproponowali schemat opisujący typy przebudowy naczyń. Może mieć ona charakter dośrodkowy, skompensowany lub odśrodkowy, gdy dochodzi do zwiększenia, utrzyma-

nia albo zwiększenia światła naczyń. Przebudowa może się również wiązać ze wzrostem ilości składników naczyń (przerostowa, hipertroficzna), zachowaniem ich ilości, ale zmianą organizacji (eutroficzna) oraz zmniejszeniem ilości elementów budujących ścianę (hipotroficzna). W nadciśnieniu samodzielnym najczęściej dochodzi do eutroficznej dośrodkowej przebudowy naczyń oporowych, polegającej na zmianie organizacji przestrzennej prawidłowych komórek wokół zmniejszonego światła. Potwierdzono to nie tylko w badaniach na modelach zwierzęcych, ale również prowadzonych u ludzi — wykazano, że nadciśnienie tętnicze wiąże się ze zmniejszeniem światła i zwiększeniem stosunku grubości błony środkowej do wewnętrznej średnicy naczyń oporowych [14, 39–41].

Czynniki determinujące przebudowę mają charakter złożony [22, 23, 26]. Zarówno wzrost ciśnienia, jak i przepływu może warunkować pogrubienie ścian. Znaczenie może mieć także oddziaływanie substancji produkowanych przez śródbłonek pod wpływem wzmożonego przepływu, a także działanie czynników wzrostu. W badaniach na modelach zwierzęcych oraz prowadzonych u ludzi wykazano, że w przebudowie naczyń mikrokrążenia szczególne znaczenie mają: zwiększone tworzenie wolnych rodników tlenowych, głównie przez oksydazę NAD(P)H, oraz reakcja zapalna związana z migracją leukocytów, mediowana częściowo przez jądrowy czynnik I- κ B [42]. Ponadto okazało się, że wzrost stosunku grubość ściany–światło naczyń jest związany ze zmianami w zewnątrzkomórkowym *matrix* oraz stopniem nasilenia apoptozy [43]. Niemalą rolę odgrywa także działanie angiotensyny II, która stymuluje oksydazę NAD(P)H, produkcję wolnych rodników tlenowych, aktywuje jądrowy czynnik κ B, zwiększa ekspresję mediatorów zapalenia i adhezję molekuł [44]. Znaczenie w przebudowie mogą mieć także integryny — przezbłonowe białka przylegania międzykomórkowego [45, 46]. Poprzez integryny sygnał fizyczny zostaje przekształcony na pobudzenie wewnątrzkomórkowe, które, z jednej strony, doprowadza do reorganizacji cytoszkieletu, a z drugiej — uaktywnia wiele procesów wewnątrzkomórkowych, co może skutkować na przykład zmianą kształtu komórki lub aktywacją transkrypcji genów [45, 46]. Wykazano, że przekazywanie sygnału poprzez integryny odbywa się zarówno do wnętrza, jak i na zewnątrz komórki. Dzięki temu aktywowana komórka może wpływać na macierz pozakomórkową, jak również na komórki sąsiednie.

W nadciśnieniu tętniczym obserwuje się głównie eutroficzny, a nie przerostowy typ zmian. Uważa się, że wyjściowo zwiększona aktywność neurohumoral-

na prowadzi do obkurczenia naczyń i wzrostu ciśnienia tętniczego, a dopiero z czasem aktywne obkurczenie zamienia się w bierną przebudowę [24, 47]. Napięcie w obrębie mięśniówki gładkiej naczyń zależy także od przydanki i miększu otaczającej tkanki, w której dane naczynie przebiega. Elementy otaczające sieć naczyń mikrokrążenia, wywierając nacisk na naczynia, mogą równoważyć nacisk wywołany ciśnieniem i ograniczać tendencję do występowania przerostu [48]. Efekt ten jest wyraźniejszy w obrębie małych tętniczek położonych między włóknami mięśniowymi niż w tętnicach zlokalizowanych na zewnątrz narządów. Ponadto naczynia mikrokrążenia mogą nie reagować wyraźnym przerostem również z powodu braku w ich ścianie mięśniówki gładkiej, podatnej na działanie czynników wzrostowych.

Ostatnim elementem zmian obserwowanych w obrębie mikrokrążenia w nadciśnieniu tętniczym jest zjawisko **przerzedzenia naczyń** [18, 20]. W warunkach spoczynkowych część naczyń nie jest perfundowana, co stanowi rezerwę wykorzystywaną w warunkach zwiększonego zapotrzebowania metabolicznego. W przypadku przerzedzenia dochodzi do zmniejszenia liczby równolegle połączonych ze sobą tętniczek przedwłośniczkowych, co przyczynia się także do zwiększenia oporu obwodowego [49, 50].

Uważa się, że w momencie wzrostu ciśnienia tętniczego są uruchamiane mechanizmy, na przykład metaboliczne lub miogenne, których rolą jest utrzymanie stałego przepływu krwi w łożysku naczyniowym [49]. Pod wpływem tych czynników hemodynamicznych dochodzi do przebudowy w większych naczyniach (o średnicy $> 100 \mu\text{m}$), natomiast w małych naczyniach obserwuje się zjawisko przerzedzenia. Gęstość kapilar korelowała odwrotnie z frakcją wyrzutową serca [51]. Początkowo zmiany mają charakter czynnościowy i poprzez konstrykcję mikrokrążenia prowadzą do obniżenia perfuzji, która może zostać przywrócona w wyniku zadziałania silnych bodźców wazodylatacyjnych, takich jak przekrwienie lub substancje rozkurczające [50]. Z czasem naczynia nieperfundowane stopniowo zanikają, co prowadzi do strukturalnej fazy przerzedzenia, która nie może zostać odwrócona wazodylatacją. W mechanizmie przerzedzenia ważną rolę odgrywa stres oksydacyjny, który, zwiększając ilość wolnych rodników tlenowych, prowadzi do inaktywacji NO i osłabienia zależnej od NO wazodylatacji [52]. Brak przepływu indukuje apoptozę komórek *endotelium* [53].

W nadciśnieniu pierwotnym przerzedzenie może także zależeć od wyjściowo upośledzonej angiogenezy [48, 54, 55]. Liczba powstających naczyń zależy od wpływów genetycznych, czynników działają-

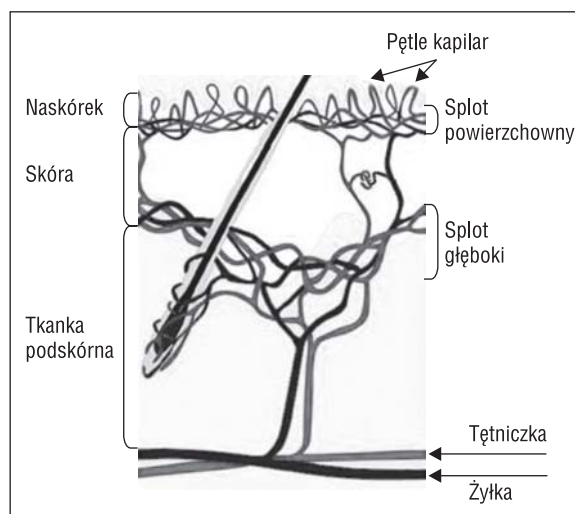
cych w życiu płodowym oraz zapotrzebowania metabolicznego danej tkanki, zaś rozmiary naczyń — od wielkości przepływu krwi, a grubość ściany — od napięcia śródciennego.

Przerzedzenie mikrounaczynienia prowadzi do zmniejszenia dostępności dla tlenu oraz wydłużenia drogi dyfuzji do tkanek docelowych, a w rezultacie — do niedotlenienia i uszkodzenia narządów celowych w nadciśnieniu [19, 56]. Pojawiła się nawet opinia, że zmiany czynnościowe i strukturalne małych tętnic można uznać za jeden z bardziej swoistych markerów ryzyka sercowo-naczyniowego [57].

Skóra jako narząd oceny mikrokrążenia

Budowa skóry i jej unaczynienie

Skóra jest jednym z większych narządów ciała ludzkiego i pełni ważną funkcję ochronną przed szkodliwymi wpływami środowiska zewnętrznego (drobnoustrojami, substancjami chemicznymi, temperaturą). Swą funkcję realizuje dzięki specyficznej budowie [58]. Najbardziej powierzchownie położony naskórek ma różną grubość (50–400 μm), nie zawiera naczyń krwionośnych i jest przepuszczalny dla światła — szczególnie promieniowania podczerwonego. Jego komórki powstają w warstwie podstawnej i po każdym podziale przesuwają się coraz bliżej powierzchni, gdzie stopniowo obumierając, tworzą warstwę rogową. Skóra właściwa jest zlokalizowana tuż poniżej naskórka. Tworząc ją tkanka łączna, zawierająca włókna kolagenu i elastyny, stanowi jednocześnie podporę mechaniczną dla warstwy podstawnej. Sieć naczyń mikrokrążenia skórnoego tworzy dwa spłoty: powierzchniowy na głębokości 400–500 μm oraz głęboki spłot skórny zlokalizowany około 1,9 mm od powierzchni skóry (ryc. 2). Od spłotu powierzchniowego w kierunku warstwy podstawnej odchodzą pętle kapilar (o średnicy 10 μm). Spłot powierzchniowy jest połączony z głębokim przez wstępujące arteriole i zstępujące żyłki. Między tętniczkami i żyłkami występują połączenia — anastomozy tętniczo-żylne — które umożliwiają szybkie zwiększenie lub zmniejszenie przepływu przez skórę przy regulacji jej temperatury. Są one szczególnie liczne w niektórych okolicach, takich jak palce, nos, wargi i ucho. Najgłębszą warstwą skóry jest tkanka podskórna, która zawiera tkankę tłuszczową stanowiącą izolację termiczną i mechaniczną. Przepływ krwi przez tę warstwę skóry zapewniają pary wstępujących arterioli i zstępujących żyłek. Inne struktury skóry, takie jak włosy i gruczoły, są otoczone przez odrębne niewielkie sieci kapilarne.



Rycina 2. Schemat budowy skóry i jej unaczynienia

Figure 2. Chart of skin anatomy and circulation

Fizjologiczne zmiany przepływu w obrębie mikrokrążenia skóry i ich znaczenie w termoregulacji

Większość (85–90%) naczyń mikrokrążenia skórnoego spełnia funkcje termoregulacyjne, a tylko 10–15% krwi przepływa przez odżywcze naczynia włosowate [26, 58]. Zmniejszenie światła naczyń prowadzi do znacznej redukcji średniej szybkości przepływu (do ok. 0,5 mm/s) i ciśnienia. Spadek ciśnienia następuje przed osiągnięciem poziomu naczyń włosowatych i w ich obrębie ciśnienie jest obniżone do poziomu zbliżonego do ciśnienia onkotycznego białek osocza (ok. 24 mm Hg). Dlatego w wąskich tętniczkach występują znaczne siły ścinające i wyższe ciśnienie, natomiast po stronie żyłnej naczyń mają szersze światło i większą objętość, ale niższe jest w nich ciśnienie tętnicze, tlenu, a narażenie na siły ścinające — mniejsze. Prawidłowy przepływ przez skórę wynosi w przybliżeniu 250 ml/m²/min. Do uszkodzenia skóry dochodzi dopiero przy zmniejszeniu przepływu do mniej niż 30 ml/m²/min. Z kolei przy wysokiej temperaturze otoczenia przepływ w skórze może się zwiększać aż do wartości rzędu 2000 ml/m²/min. Zmiany przepływu w mikrokrążeniu zależą od różnic w stężeniu gazów krwi, hormonów oraz czynników fizycznych, takich jak temperatura i ciśnienie. Podlegają także kontroli autonomicznego układu nerwowego, którego stymulacja zwiększa lub zmniejsza perfuzję przez wazokonstrykcję lub wazodylatację arterioli [58].

Fizjologiczna termoregulacja u ludzi obejmuje nasilenie utraty ciepła (skórna wazodylatacja i pocenie się) oraz generację ciepła (dreszcze) w odpowiedzi na różne bodźce wewnętrzne i zewnętrzne [59]. Centralna kontrola termoregulacji znajduje się w móz-

gu, w obszarze znajdującym się od przodu blaszki czworaczej oraz w obrębie podwzgórza. W obszarze tym są analizowane informacje dotyczące temperatury wewnętrznej (głębokiej) i powierzchniowej (skóra) oraz jest koordynowana odpowiednia odpowiedź regulacyjna.

Spoczynkowy przepływ skórny w neutralnych warunkach środowiska powoduje utratę ciepła wynoszącą średnio 80–90 kcal/h podczas procesów metabolicznych na spoczynkowym poziomie [58]. Wazodylatacja skórna może zwiększyć przepływ nawet kilkukrotnie, co prowadzi do nasilenia konwekcyjnego transferu ciepła z wnętrza do obwodu [59]. Wraz z wazodylatacją skórną i wyparowywaniem potu obniża się temperatura skóry i następuje ochłodzenie krwi w rozszerzonych naczyniach skórnych, zanim krew powróci w głąb ciała, aż wytworzy się stan równowagi, w którym utrata ciepła i jego wyważenie są sobie równe. Po osiągnięciu prawidłowej temperatury wewnętrznej ustaje pocenie, a przepływ skórny powraca do wartości prawidłowych. Ekspozycja na zimno środowiska powoduje zmniejszenie przepływu skórnego przez wazokonstrykcję skórną. Następuje więc ograniczenie utraty ciepła na powierzchni skóry i zmniejszenie transportu konwekcyjnego ciepła z głębi na powierzchnię. Przy dalszym oziębieniu rozpoczynają się dreszcze. W rezultacie skurcze mięśniowe wywołują zwiększenie generacji ciepła, co w kombinacji z jego zmniejszoną utratą pomaga w utrzymaniu wewnętrznej temperatury ciała podczas ekspozycji na zimno.

Regulacja przepływu podczas hipertermii następuje przez zakończenia układu sympatycznego, które mają charakter zarówno wazodylatacyjny, jak i wazokonstrykcyjny [60]. Oba rodzaje zakończeń znajdują się w obrębie skóry owłosionej, natomiast skóra nieowłosiona (na dłoniach, stopach, ustach) jest unerwiona wyłącznie przez nerwy sympatyczne wazokonstrykcyjne [59]. W skórze nieowłosionej obecne są ponadto liczne anastomozy tętniczo-żylny, co pozwala na szybkie zmiany przepływu. System wazokonstrykcyjny w ludzkiej skórze jest tonicznie aktywny, a zmiany w jego aktywności są odpowiedzialne za utrzymanie temperatury ciała.

Miejscowe ogrzanie skóry powoduje bezpośrednią i znaczącą wazodylatację obszaru ogrzewanego [59, 61]. Odpowiedź wazodylatacyjna przebiega dwufazowo; początkowo, podczas pierwszych kilku minut, następuje szybki wzrost przepływu, następnie umiarkowany spadek, a potem powolna wazodylatacja, która osiąga *plateau* po 25–30 minutach ogrzewania. Końcowy efekt zależy od stosowanej temperatury. Wyjściowa faza wazodylatacji w zakresie temperatur 20–40 °C zależy od aktywacji nerwów

czuciowych. Są to głównie włókna aferentne typu C, które są pobudzane działaniem peptydu zależnego od genu kalcytoniny, substancji P oraz neurokininy A [59, 62]. Stymulacja może być też uzyskana za pomocą kapsaicyny (ostry składnik *chilli*), która działając poprzez receptor waniloidowy (VR1, *vaniloid receptor 1*) na zakończeniach nerwowych, powoduje jego depolaryzację przez otwarcie kanałów kationowych, co wywołuje lokalne odczucie ciepła i wazodylatację. Receptory VR1 są także aktywowane bezpośrednio przez temperaturę i zakwaszenie. Aktywność nerwowa nie wpływa na drugą wolną fazę odpowiedzi, dla której — zarówno w rozpoczęciu, jak i utrzymaniu — znaczenie ma NO [59, 63, 64].

Możliwości oceny przepływów w obrębie mikrokrążenia skórnego

W ocenie mikrokrążenia wykorzystuje się kilka metod badawczych, z których każda ma swoje zalety i wady.

Przezskórne badanie ciśnienia parcjalnego tlenu (tcpO_2) pozwala na ocenę podaży tlenu do skóry [65]. Za pomocą elementu grzewczego aparatu temperatura skóry jest zwiększona do 40–44 °C w celu wywołania lokalnego przekrwienia. Ilość tlenu dyfundująca przez tkankę jest mierzona przez elektrodę, a uzyskiwana wartość — podawana w mm Hg. Technika ta jest przydatna do oceny krytycznego niedokrwienia kończyn, ale pozwala jedynie na pośrednią ocenę mikrokrążenia.

Fotopletyzmografia służy do pomiaru intensywności fluktuacji światła, które przenika przez tkankę [65]. Zmiany intensywności światła odzwierciedlają wahania perfuzji skórnej, związanej z pulsacyjnym charakterem przepływu tętniczego. Pozwala na ocenę funkcji mikrokrążenia, choć nie mierzy przepływu w jednostkach absolutnych.

Żylna pletyzmografia okluzyjna to technika umożliwiająca pomiary zmian obwodu kończyn przy wzroście ciśnienia hydrostatycznego [16]. Pozwala na pomiary przepływu i przepuszczalności naczyniowej w obrębie mięśni szkieletowych kończyn w jednostkach absolutnych. Jest metodą czasochłonną, wymagającą kompleksowej kalibracji, podatną na występowanie zakłóceń wynikających z ruchu, a interpretacja wyników jest często utrudniona u badanych z niskim ciśnieniem rozkurczowym.

Spektroskopia bliskiej podczerwieni to metoda wykorzystująca światło podczerwieni, które penetrując do tkanki, jest wychwytywane przez chromofory (hemoglobinę, mioglobinę) i na tej podstawie jest wyliczana średnia saturacja hemoglobiny [16]. Metodę tę można wykorzystywać do oceny różnych narządów, ale najczęściej jest stosowana śródoperacyj-

nie do badania przepływów przez tkankę mózgową. Ocena jest prosta, wyniki są uzyskiwane szybko, ale tylko pośrednio dają wgląd w przepływy tkankowe; nieznana jest także głębokość penetracji światła, a rozdzielczość sygnału — słaba.

Za pomocą **tkankowej fotometrii odbiciowej**, rejestrującej światło odbite w spektrum określonej długości fali charakterystycznej dla utlenowanej i odtlenowanej hemoglobiny, dokonuje się pomiaru saturacji hemoglobiny tlenem oraz ocenia jej stężenie w obrębie kapilar [16]. Metoda ta umożliwia dokonywanie pomiarów z powierzchni każdego narządu, ale najczęściej ze skóry i powierzchni śluzówek. To prosta technika, pozwalająca na pomiary w jednostkach absolutnych w krótkim czasie. Jednak rejestrowane spektrum długości fal zależy od zawartości innych poza hemoglobiną chromoforów tkankowych (melaniny, cytochromów).

Przyżyciowa kapilaroskopia pozwala na uwidocznienie kapilar w mikroskopie optycznym i jest często połączona z wideorejestracją. Umożliwia ocenę anatomii i funkcji obserwowanych naczyń, najczęściej w obrębie wału okołopaznokciowego [65, 66]. Odmianą tej metody jest dynamiczna kapilaroskopia, umożliwiająca rejestrację obrazu przepływu krwi w uwidocznionych kapilarach. Zarejestrowane obrazy są następnie analizowane komputerowo, a liczba erytrocytów i szybkość ich przemieszczania są przeliczane na pojedyncze kapilary. Metoda ta jest często uznawana za „złoty standard” w ocenie odżywczego przepływu, jednak nie można jej wykorzystywać w odniesieniu do innych obszarów organizmu. Pewną odmianą tej metody jest angiografia fluoresceinowa, w której zastosowanie znacznika ułatwia identyfikację i ocenę erytrocytów w trakcie przyżyciowego badania mikroskopowego [67].

Stosunkowo nowa technika to **obrazowanie za pomocą ortogonalnej polaryzacji spektralnej**, która pozwala na uwidocznienie powierzchniowych naczyń skórnych bez użycia mikroskopu [16, 65]. Spolaryzowane światło ulega odbiciu od badanej tkanki i jest wychwytywane przez kamerę z filtrem polaryzującym. Powtórna polaryzacja blokuje światło rozproszone przez powierzchniowe warstwy tkanek i w rezultacie tylko światło powracające z głębszych warstw może minąć drugą polaryzację, zwiększając widzialność erytrocytów. Ruch erytrocytów jest analizowany komputerowo, pozwalając na ocenę perfuzji. Metodę można stosować w różnych obszarach skóry, uzyskując podobne informacje jak w przypadku zastosowania dynamicznej kapilaroskopii. Technika ta umożliwia badanie nie tylko mikrokrazenia skórniego, ale także podśluzówkowego, a w czasie zabiegów operacyjnych — również z powierzchni

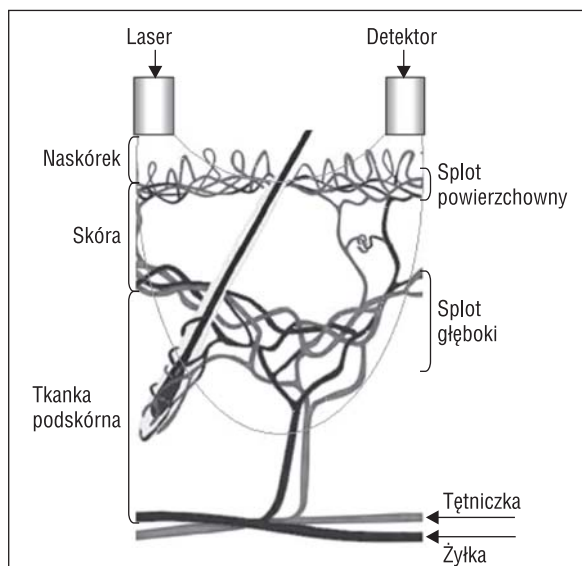
róznych narządów. Jest jednak podatna na artefakty zależne od ruchu i wartości ciśnienia, wymaga czasu, a pomiary mają raczej charakter jakościowy.

Laserowa przepływometria z wykorzystaniem efektu Dopplera (LDF, *laser Doppler flowmetry*) umożliwia ocenę przepływów w obszarze mikrokrazenia [16, 65, 66]. Monochromatyczne światło lasera o określonej długości fali penetruje z powierzchni skóry w głąb i wchodzi w interakcję zarówno z elementami statycznymi (białkami, keratyną, melaniną, hemoglobiną), jak i poruszającymi się komórkami krwi. Część światła odbija się od poruszających się erytrocytów. Pod wpływem efektu Dopplera fala światła ulega załamaniu proporcjonalnemu do liczby i szybkości poruszających się komórek krwi i tym samym perfuzji tkanki. Tą techniką nie uzyskuje się wartości przepływów w jednostkach absolutnych, a rejestracja dotyczy małej objętości tkanki. Jednak niewątpliwą zaletą badania LDF jest fakt, że nieinwazyjnej rejestracji przepływów w naczyniach mikrokrazenia dokonuje się w realnym czasie. Badania można wykonywać na powierzchni każdego narządu, ale najczęściej na skórze lub śluzówce żołądka. Poza monitorowaniem perfuzji możliwe jest także obrazowanie przepływów [68]. W obrazowaniu stosuje się metody skanowania z odległego źródła światła i detektora, co pozwala ocenić większe powierzchnie tkanek, ale ze względu na czas potrzebny do skanowania niemożliwa staje się ciągła rejestracja.

Możliwości oceny mikrokrazenia skórniego za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej

Laserowa przepływometria dopplerowska była z powodzeniem wykorzystywana do określania zaburzeń mikrokrazenia skórniego występujących w wielu zespołach chorobowych [16, 65, 66]. Najwcześniejsze badania dotyczyły oceny zaburzeń krążenia obwodowego u osób z chorobą naczyń obwodowych, z cukrzycą czy z chorobami żył. Obecnie wykorzystuje się ją do oceny przepływów w różnych schorzeniach, w tym: w chorobie niedokrwiennej serca, w nadciśnieniu tętniczym, w chorobach układowych tkanki łącznej, w niewydolności nerek, sepsie.

W technice LDF wykorzystuje się obecnie diody laserowe, które generują światło o niskiej mocy, o długości fali 780 nm, w niewielkim stopniu absorbowane przez utlenowaną i odtlenowaną krew [16, 65, 66]. W obrębie sondy znajdują się dwa włókna o wymiarze rzędu 0,125 mm. Jedno służy do przenoszenia światła lasera do tkanki (tzw. włókno oświetlające), a drugie (tzw. włókno wykrywające) prze-



Rycina 3. Schemat badania przepływów skórnych za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej

Figure 3. Chart of cutaneous flow examination using lesser Doppler flowmetry

nosi część rozproszonego światła do monitora, gdzie jest wzmacniane, analizowane i wreszcie transformowane na sygnał analogowy. Objętość ocenianej tkanki zależy od długości fali i odległości między sondą wysyłającą światło a zbiorczą. Przy większej odległości między włóknami światło przemieszcza się z głębszych warstw skóry. W większości urządzeń LDF jest stosowana separacja między sondami około 500 μm , co umożliwia penetrację 1–1,5 mm^3 tkanki (ryc. 3).

Wielkość zmian długości fali proporcjonalna do liczby poruszających się komórek jest multiplikowana przez ich średnią szybkość poruszania i określana mianem przepływu (*flux*). Uzyskiwane wyniki mają charakter względny i są wyrażane jako arbitralne jednostki perfuzji (PU, *perfusion units*). W ostatnich latach oceniono, że wielkość przepływu krwi bezpośrednio zależy do ciśnienia perfuzji, dlatego w trakcie badania zaproponowano wprowadzenie lepszego wskaźnika przepływu, określonego mianem przepływu skórno (CVC, *cutaneous vascular conductance*), wyliczonego jako stosunek zmierzonych wartości przepływu i średniego ciśnienia tętniczego [65].

Wykazano, że laserowa przepływometria dopplerowska jest porównywalna z kapilaroskopią [69] oraz z klirensem ksenonu-133 i metodami termograficznymi [70]. Najczęściej podkreślanym ograniczeniem metody jest wrażliwość badania na warunki w trakcie wykonywania pomiaru [71]. Jednak w ostatnich latach ukazało się wiele publikacji, które wskazują,

że wystandaryzowanie okoliczności i sprecyzowanie miejsca wykonywania pomiaru znacznie poprawiają powtarzalność przepływów, a średni współczynnik wariancji pomiarów wykonywanych w różnych dniach u tego samego chorego wynosi poniżej 10% [72, 73]. Powtarzalność poprawia się także znacznie w przypadku stosowania różnych technik stymulacji przepływu, takich jak pomiary reaktywnego przekrwienia po niedokrwieniu (PORH, *postocclusive reactive hiperemia*), ogrzewanie skóry (HF, *heat flow*) czy wprowadzanie do skóry, metodą jontoforezy, substancji o charakterze wazoaktywnym [16, 61, 65, 74].

Zmiany w wyniku niedokrwienia

Technika badania rozszerzalności tętnicy ramiennej po niedokrwieniu (FMD, *flow mediated dilation*) jest uznaną nieinwazyjną metodą do oceny funkcji śródbłonna [75, 76]. Zwiększenie produkcji NO przez *endotelium* następuje pod wpływem zwiększenia sił ścinających w naczyniu wywołanych wzrostem szybkości przepływu krwi po zwolnieniu zacisku naczynia. Dokonywanie pomiaru na tętnicy ramiennej ogranicza możliwości oddziaływania na przepływ czynników metabolicznych z niedokrwionego obszaru dłoni. Uważa się, że jest to metoda powtarzalna, a uzyskiwane wyniki — wiarygodne [77]. Jednak jej poważnym ograniczeniem jest fakt, że zmiany wymiarów tętnicy są niewielkie ($< 10\%$) u osób zdrowych, a tylko 1–2% u badanych obciążonych zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym [75]. Aby ograniczyć zróżnicowanie pomiarów, badanie musi przeprowadzać doświadczony zespół. Ponadto ocena dotyczy funkcji śródbłonna tętnic przewodzących, a nie naczyń mikrokrążenia.

Badanie przepływu skórno po niedokrwieniu jest pozbawione tego ograniczenia, ponieważ rejestruje się bezpośrednio zmiany przepływu powstałe w wyniku niedokrwienia. Umożliwia także ocenę przepływu w czasie trwania niedokrwienia. Ten minimalny przepływ, określany mianem zera biologicznego, dotychczas rzadko wykorzystano jako odrębny parametr charakterystyki przepływu [66]. Część badaczy sugeruje odejmowanie wartości tego przepływu od pozostałych wyników pomiarów LDF [65]. Uważa się też, że ten minimalny sygnał może być generowany przez ruchy Browna komórek, jak również przez aktywność naczynioruchową.

W skórno mikrokrążeniu zwiększenie przepływu po niedokrwieniu, w odróżnieniu od FMD, zależy od czterech innych mechanizmów: czynników metabolicznych, śródbłonkowych, reakcji miogennej oraz wpływu nerwów czuciowych [78, 79]. Tlenek azotu nie odgrywa w tym przypadku kluczowej roli [80]. Kontrola zwieraczy przedwłośniczkowych, których

rozkurcz warunkuje zwiększenie przepływu, zależy od układu współczulnego [79]. Większe napięcie zwieraczy może prowadzić do niepełnego rozkurczu w warunkach niedokrwienia, powodując zmniejszenie reakcji przekrwiennej po przywróceniu prawidłowego przepływu. Dysfunkcja współczulna powoduje zwiększenie całkowitego przepływu krwi przez skórę, ale ze względu na otwarcie połączeń tętniczo-żylnych w głębszych warstwach skóry wypadkowy przepływ przez brodawki skóry właściwej, a więc i dowóz składników odżywczych, może ulegać zmniejszeniu [81].

Odpowiedź na zmiany temperatury

Ocena wzrostu ciśnienia podczas próby oziębienia była jednym z pierwszych testów prowokacyjnych, który rekomendowano jako użyteczny przy klinicznej klasyfikacji nadciśnienia tętniczego opracowanej przez Tochowicza w 1953 roku [82]. Ocenę stopnia zmniejszenia przepływu krwi przez skórę pod wpływem miejscowego oziębienia wykorzystywano do oceny adrenergicznych i nieadrenergicznych mechanizmów wazokonstrykcji naczyń [83, 84].

Bardziej przydatny w ocenie funkcji śródbłonna w obrębie mikrounaczynienia skórnoego okazał się test miejscowego ogrzewania naczyń skóry, którego druga faza zależy praktycznie wyłącznie od śródbłonkowego wydzielania NO [59, 63, 64]. Miejscowe ogrzanie skóry zwiększa przepływ, a maksymalne wartości są osiągane przy temperaturze między 42 a 44 °C [59, 61].

Oslabienie termicznej reakcji przekrwiennej obserwowano w przebiegu cukrzycy [85]. Także u chorych z zespołem tachykardii posturalnej wykazywano pogorszenie wazodylatacji w fazie *plateau* [86]. U pacjentów z uszkodzeniem rdzenia kręgowego występowało osłabienie pierwszej odruchowej fazy wazodylatacji [87].

Zmiany przepływów po podaniu substancji wazoaktywnych

Zmiany przepływów można także uzyskać, wprowadzając do skóry substancje o potencjalnie wazodylatoryjnym działaniu metodą jontoforezy lub techniką bardziej inwazyjną, jaką jest mikrodializa [65]. Ilość podawanej substancji zależy od dawki, czasu aplikacji i barier skórnych. Najczęściej wykorzystuje się acetylocholinę (ACh, *acetylcholine*), która powoduje wazodylatację zależną od *endotelium*, oraz nitroprusydek sodu, odpowiedzialny za niezależny od śródbłonna rozkurcz naczyń. Acetylocholina, pobudzając receptory muskarynowe w nieuszkodzonym śródbłonku, powoduje uwalnianie NO [88], ale także pobudza nocyceptywne zakończenia nerwowe C,

co prowadzi do uwalniania substancji P oraz peptydu zależnego od genu — kalcytoniny [89–91]. Ten ostatni prowadzi bezpośrednio do rozkurczu naczyń, a substancja P — pośrednio, przez uwolnienie histaminy z komórek tucznych. Nitroprusydek sodu jest z kolei donorem NO, który dyfundując do naczyń, stymuluje cyklazę guanylową mięśni, prowadząc do ich rozkurczu [92].

Homeodynamika mikrokrazenia skórnoego

Koncepcja homeodynamiki w fizjologii

Zgodnie z dogmatem klasycznej fizjologii zachowanie zdrowia zależy od utrzymania homeostazy środowiska wewnętrznego organizmu. Ten paradygmat po raz pierwszy sformułował Claude Bernard pod koniec XIX wieku, a następnie rozwinął jego następca Walter Cannon [93]. W określeniu *homeostasis* fragment *'stasis'* sugeruje stagnację, bezruch, a analiza parametrów fizjologicznych organizmu, nawet w warunkach spoczynkowych, wskazuje, że żaden z nich nie jest w pełni stabilny, tylko podlega ciągłym wahaniom, szczególnie widocznym przy obciążeniu organizmu [94]. Fluktuacje parametrów fizjologicznych są zazwyczaj pomijane podczas analizy przez uśrednianie zmierzonych wartości.

W latach 90. ubiegłego wieku pojawiły się opinie uznające niestabilność i brak równowagi za fundamentalną cechę życia związaną ze zdolnością organizmów żywych do samoorganizacji i plastyczności [94, 95]. Podstawą tego nowego podejścia było przyjęcie, że oscylacje, fluktuacje i brak liniowej zależności w efektywny sposób zabezpieczają integralność organizmów żywych i umożliwiają ich plastyczne dostosowywanie się do zmian środowiska zewnętrznego i wewnętrznego. Amerykański fizjolog Yates zaproponował, aby zamiast stosowanego powszechnie pojęcia „homeostaza” wprowadzić określenie „homeodynamika”, odzwierciedlające obserwowaną zmienność badanych układów [95].

W zmienności parametrów fizjologicznych można zaobserwować ich okresową cykliczność lub zachowania chaotyczne. Cykliczność zmian parametrów biologicznych jest widoczna w dłuższych i krótszych przedziałach czasowych [96–98]. Te tak zwane rytmy czy zegary są cechą charakterystyczną niemal wszystkich organizmów eukariotycznych. Obserwuje się je na poziomie funkcjonowania organizmu jako całości — są regulowane centralnie [96], ale występują też na poziomie obwodowym: narządowym, tkankowym, metabolicznym, a nawet dotyczącym ekspresji genów [97, 98]. Zmiany rytmów biologicznych

wykazują bardzo silny związek z chorobowością, co jest szczególnie wyraźnie obserwowane w odniesieniu do schorzeń układu sercowo-naczyniowego [99, 100].

Często jednak wahania parametrów fizjologicznych są całkowicie nieregularne, nieperiodyczne, nieprzewidywalne w dłuższym czasie, generowane przez zdeterminowane procesy nieliniowe [101, 102]. Tego typu zachowania są w przyrodzie powszechne i określa się je mianem chaotycznych. W stanie chaotycznym układ wykazuje czułość na warunki początkowe, tj. bardzo mała zmiana warunku początkowego narasta wykładniczo z biegiem czasu. Układ może się poruszać z bardzo wieloma częstościami. Chociaż pod wpływem zaburzenia zewnętrznego trajektoria układu zmienia się w szczegółach, to układ pozostaje w tym samym stanie. Jest zatem stabilny dynamicznie, a jednocześnie może zmieniać swoje zachowanie w szerokim zakresie. Na ogół trajektorie fazowe układu w stanie chaotycznym są fraktalami [101, 102].

Fraktalny charakter wykazuje także wiele struktur i funkcji organizmu [102–104]. W biologii molekularnej analizę fraktalną wykorzystywano do oceny sekwencji DNA [105] oraz struktury białek [106]. Metodę tą stosowano także do badania powierzchni oraz objętości pojedynczej komórki czy struktur wewnątrzkomórkowych [107]. Ponadto używano jej do oceny powierzchni jelita czy dróg oddechowych, jak również rozgałęzień drzewa oddechowego czy łożyska naczyniowego w różnych narządach, w badaniu struktury kości, komórek układu nerwowego, a także całego mózgu [103, 108]. Za pomocą fraktali można opisać również wiele parametrów fizjologicznych [101], a ponadto są one wykorzystywane przy analizie obrazów radiologicznych i ultrasonograficznych [101, 109]. Ze względu na powszechne występowanie fraktalnej geometrii w układach biologicznych uważa się, że stanowi ona charakterystyczną cechę życia [108]. Ponadto wykazano, że w sytuacjach patologicznych charakter fraktalnej geometrii się zmienia. Najwcześniejsze prace dotyczą fraktalnej charakterystyki budowy i kształtu guzów nowotworowych [110]. Poza tym stwierdzono, że zmiany fraktalnej geometrii cech histopatologicznych obserwuje się także w wielu innych schorzeniach, między innymi neurologicznych, chorobach kości czy naczyń [103]. Ze względu na udział patologii naczyniowej w wielu procesach chorobowych badano także zmiany fraktalnej charakterystyki unaczynienia badanej struktury. Na przykład, w guzach nowotworowych stwierdzano mniej chaotyczny charakter nowotworzonej sieci mikrounaczynienia [111].

W układzie krążenia analizę fraktalną prowadzono w stosunku do wielu parametrów. Okazało się, że analiza fraktalna badań obrazowych bardzo dobrze

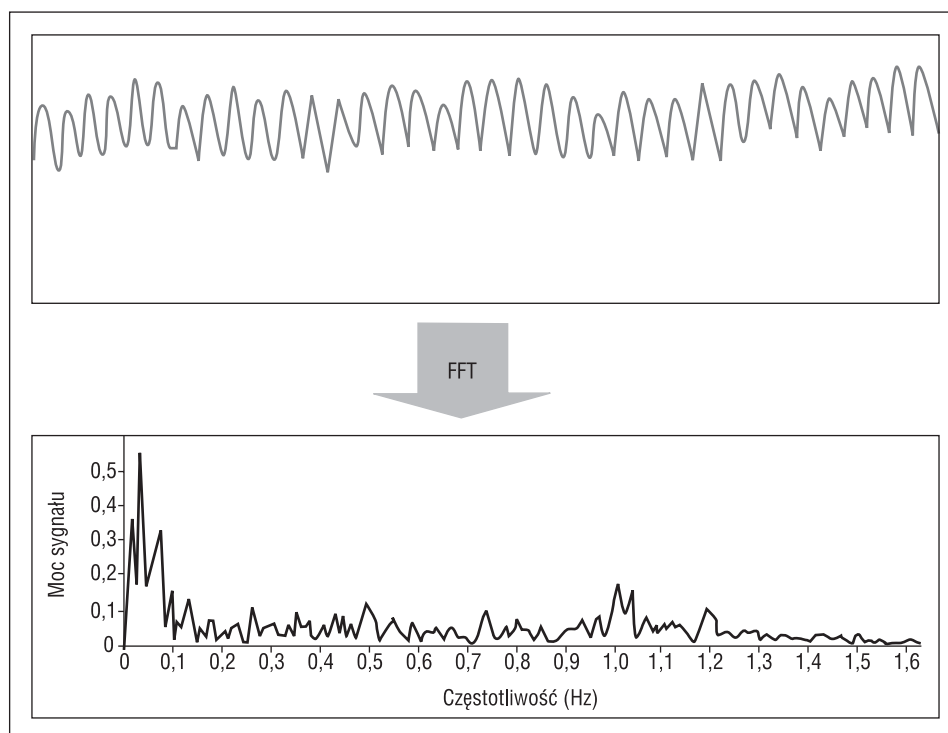
ilustruje heterogenność przepływów w mięśniach szkieletowych [112], w mięśniu sercowym [113] czy w nerkach [114]. W ostatnich latach dowiedziono także, że kliniczne znaczenie ma fraktalna ocena mechanizmów kontroli rytmu serca [115]. Nie do końca jednak wiadomo, czy inne wskaźniki fraktalnej regulacji układu krążenia mają wartość kliniczną. Analiza 24-godzinnego monitorowania oraz ciągłego pomiaru ciśnienia nie wykazała, by obecność nadciśnienia tętniczego zmieniała fraktalną komponentę zmian ciśnienia tętniczego [116].

Homeodynamika mikrounaczynienia skórno- — czynność naczynioruchowa

Ponieważ cechy ukrwienia narządów i tkanek, heterogenność i wahania przepływu mają znaczenie dla wielu patologii ludzkiego organizmu, wydaje się ważne, aby w różnych sytuacjach klinicznych analizować homeodynamiczne wahania przepływów, których wielkość zależy od czynności naczynioruchowej naczyń krwionośnych. Rytmiczne ruchy ściany naczyń i wyzwalane nimi zmiany przepływów są widoczne w całym łożysku naczyniowym, jednak w obrębie unaczynienia skórno- są szczególnie łatwe do uwidocznienia i rejestrowania [117].

Rejestrując przepływ krwi w skórze za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej, stwierdza się rytmiczne zmiany przepływu (*flowmotion*) wynikające z okresowego otwierania i zamykania (czynność naczynioruchowa; *vasomotion*) tętnic i tętniczek [65]. Oscylacje występują głównie w obrębie małych tętniczek oporowych mikrokrążenia, jednak wahania rozmiarów lub napięcia ściany opisywano również w dużych tętnicach, choć nadal pozostaje niejednoznaczne, czy jest to to samo zjawisko [117]. W odróżnieniu od skurczów mięśni gładkich w innych narządach wywołujących falę perystaltyczną, w naczyniach rytmika skurczu jest synchroniczna na całej długości tętnicy.

Uważa się, że czynność naczynioruchowa może być ważnym elementem składowym regulacji przepływu, zapewniającym odpowiednią perfuzję tkanek i zapobiegającym ich uszkodzeniu w warunkach niedokrwienia. Może mieć także znaczenie w utrzymaniu zewnątrz- i wewnątrzkomórkowej równowagi płynowej [118]. Mechanizmy leżące u podłoża tego zjawiska nie są w pełni poznane. Rytmiczna aktywność to właściwość komórek mięśni gładkich, których potencjał czynnościowy ulega samoistnym fluktuacjom z częstotliwością 9–13 cykli na minutę (0,15–1,22 Hz), co powoduje skurcz i rozkurcz komórek oraz oscylacje napięcia ściany naczyniowej [119]. Spontaniczna aktywność naczynioruchowa mięśni gładkich jest jednak modulowana przez zależne od śródbłonna substancje o działaniu wazody-



Rycina 4. Fragment zdekompresowanego zapisu rejestrujący wahania przepływu w mikrokążeniu skórnym i graficzny wynik analizy uzyskanej metodą szybkiej transformacji Fouriera (FFT)

Figure 4. Part of decompressed record of flowmotion of skin microcirculation vessels and graphical results of fast Fourier transformation (FFT)

latacyjnym, układ nerwowy i czynniki środowiskowe, takie jak metabolizm, temperatura oraz równowaga elektrolitowa, a także praca serca i oddychanie. Rolę regulacyjną odgrywają też pericyty znajdujące się wokół naczyń włosowatych i postkapilarnych [120], a także tkanka tłuszczowa okołonaczyniowa, która poprzez zwiększoną produkcję adipocytokin na drodze parakrynej zmienia zależną od działania insuliny równowagę między wydzielaniem NO a produkcją endoteliny [121]. Oscylacje ściany naczynia można badać zarówno bezpośrednio przyżyciowo, jak i na izolowanych tętnicach, ale także wykonując pomiary zmian szybkości przepływu krwi czy wahań wartości ciśnienia [117]. W warunkach patologicznych nasilone oscylacje były indukowane przez stres metaboliczny (kwasicę), a zanikały podczas narkozy dobrze kontrolowanej pod względem pH. Wahania sygnału są synchroniczne w naczyniach skórnym z różnych regionów i zależą także od wpływów układu sympatycznego [122].

Uznaną metodą oceny *vasomotion* jest przyżyciowe badanie mikroskopowe, ale udowodniono, że rejestracja wahań przepływu za pomocą laserowej przepływometrii dopplerowskiej wykazuje dobrą korelację z wynikami uzyskanymi techniką mikrosko-

pową [123]. Dowiedziono, że rejestrowane wahania przepływu (*flowmotion*) wynikają z obecności *vasomotion* [119, 124], a dynamika *vasomotion* charakteryzuje się pewnego stopnia periodycznością [125]. Ocenę okresowych zmian sygnału przepływu z obszaru mikrokążenia umożliwia analiza spektralna z wykorzystaniem analizy falkowej lub szybkiej transformacji Fouriera [126–128]. Uzyskuje się dzięki temu przekształcenie sygnału domeny czasowej przepływu w spektrum częstotliwości (ryc. 4), w którym widoczna jest amplituda okresowej aktywności dla każdej częstotliwości składowej sygnału laserowego. Wyróżniono pięć charakterystycznych częstotliwości, z których oscylacje o częstotliwości około 1 Hz są przypisywane wpływom pracy serca, 0,3 Hz zależą od rytmu oddechowego, 0,1 Hz są związane z aktywnością miogenną, a około 0,04 Hz — aktywnością neurogenną (głównie sympatyczną) [129]. Obserwowano również oscylacje o częstotliwości około 0,01 Hz, których amplituda wzrasta po podaniu ACh (jontoforeza) i dlatego uważa się je za zależne od aktywności śródbłonna [129–131]. Zastosowanie analizy spektralnej sygnału dopplerowskiego uzyskanego w warunkach spoczynkowych, jak również w czasie zmiany przepływów wywołanej przez niedokrwienie, ogrzewanie czy też podawanie sub-

stancji wazoaktywnych umożliwia kompleksową ocenę funkcji mikrokrążenia [130].

Poza tymi deterministycznymi, periodycznymi wahaniem przepływu, dynamika *vasomotion* może mieć charakter nieperiodyczny, chaotyczny [125, 132, 133]. Analiza zmian aktywności naczynioruchowej w regulacji przepływu w obrębie mikrokrążenia dowiodła, że chaotyczny charakter *vasomotion* w większym stopniu zapewnia stabilność przepływu niż charakter sinusoidalny [134].

Homeodynamika mikrokrążenia skórniego w nadciśnieniu tętniczym

W badaniu mikrounaczynienia w obrębie skóry z użyciem testów prowokacyjnych wykryto zaburzenia w stanach przedklinicznych, takich jak: hipercholesterolemia [135], nadciśnienie tętnicze [136, 137], nałóg palenia tytoniu [138], hiperhomocysteinemia [139] czy proces starzenia [140]. Oczywiście zmiany były bardziej ewidentne w jawnym stanie chorobowym: w cukrzycy [141], chorobie nerek [142], chorobie niedokrwiennej serca [143], niewydolności serca [144], miażdżycy tętnic kończyn dolnych [143, 145].

Już w latach 90. ubiegłego stulecia stwierdzono, że przewlekłemu nadciśnieniu tętniczemu towarzyszy pogorszenie funkcji *endotelium* [146]. Późniejsze obserwacje, oceniające reaktywność mikrokrążenia na niedokrwienie lub pod wpływem substancji wazoaktywnych, potwierdzały tę nieprawidłowość nie tylko w nadciśnieniu [147–149], ale także u badanych z rodzinnym obciążeniem nadciśnieniem [150], choć sporadycznie pojawiały się doniesienia o prawidłowej funkcji *endotelium* w tej chorobie [151]. U chorych z nadciśnieniem tętniczym obserwowano także osłabienie odpowiedzi na miejscowe ogrzanie skóry [136] czy uogólniony wzrost temperatury ciała [148].

Mimo obserwacji dotyczących zmienionej w nadciśnieniu reaktywności naczyń, istnieją jedynie pojedyncze doniesienia o zachowaniu oscylacji przepływu u chorych z nadciśnieniem tętniczym w spoczynku oraz po niedokrwieniu u chorych z niedawno rozpoznany oraz z utrwalonym nadciśnieniem w porównaniu z grupą kontrolną z prawidłowymi wartościami ciśnienia [152]. U zdrowych osób wcześniejsze obserwacje wykazały, że reaktywna poniedokrwieniu hiperemia powodowała zwiększenie zarówno całkowitego spektrum oscylacji, jak i jego poszczególnych składowych [153, 154]. Nadciśnienie tętnicze w porównaniu z ciśnieniem prawidłowym prowadziło natomiast do nasilenia oscylacji zależnych od śródbłonna u osób z niedawno rozpoznaną chorobą oraz do zwiększenia oscylacji pochodzenia miogennego u badanych z utrwalonym nadciśnieniem tętniczym [152].

Podsumowanie

Zaburzenia w obrębie mikrounaczynienia odgrywają kluczową rolę w patofizjologii wielu stanów chorobowych, w tym szczególnie nadciśnienia tętniczego. W nadciśnieniu obserwuje się zmiany strukturalne i czynnościowe funkcji mikrokrążenia, jednak w dotychczasowych badaniach nie wyczerpano wszystkich aspektów oceny zaburzonej funkcji tej części łożyska naczyniowego. W ocenie zmian mikrounaczynienia można wykorzystać łatwo dostępne badanie mikrokrążenia skórniego. Ponadto wykazano, że zaburzenia pojawiają się w naczyniach skórnych już w przypadku obecności czynników ryzyka sercowo-naczyniowego i pogłębiają się w momencie wystąpienia jawnym schorzeń. Badanie techniką laserowej przepływometrii dopplerowskiej umożliwia ocenę nie tylko wartości przepływów oraz reaktywności mikrokrążenia skórniego, ale także analizę oscylacji przepływu, zależnych od funkcji śródbłonna, mięśni gładkich oraz modulacji neurogennej, które mają znaczenie zarówno w regulacji procesów fizjologicznych, jak i w stanach chorobowych. Możliwe jest także oszacowanie fraktalnego charakteru wahań przepływu.

Streszczenie

Zaburzenie funkcji mikrokrążenia odgrywa kluczową rolę w patofizjologii wielu schorzeń. Zmiany mikrounaczynienia obserwowano także w nadciśnieniu tętniczym. Remodeling naczyń tętniczych oraz przerzedzenie przyczyniają się w nadciśnieniu do zwiększenia oporu obwodowego. Wpływ zmian mikrokrążenia może podlegać modyfikacji przez aktywność naczynioruchową, która powoduje wahania przepływu. Analiza oscylacji przepływu może być dodatkowym elementem diagnostycznym w nadciśnieniu. Badanie skóry techniką laserowej przepływometrii dopplerowskiej umożliwia ocenę funkcji mikrokrążenia u człowieka. Metoda ta pozwala na ocenę przekrwienia po niedokrwieniu, podaniu acetylocholinę drogą jontoforezy, miejscowym stresie termicznym, a także badanie oscylacji przepływu. Tym samym umożliwia całościową ocenę funkcji mikrokrążenia i jej wykorzystanie kliniczne.

słowa kluczowe: mikrokrążenie, nadciśnienie, laserowa przepływometria dopplerowska, czynność naczynioworuchowa

Nadciśnienie Tętnicze 2010, tom 14, nr 5, strony 395–410.

Piśmiennictwo

1. Lewington S., Clarke R., Qizilbash N., Peto R., Collins R.; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360: 1903–1913.
2. Mancia G., De Backer G., Dominiczak A. i wsp. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J. Hypertens.* 2007; 25: 1751–1762.
3. Dzau V.J. Markers of malign across the cardiovascular continuum: interpretation and application. *Circulation* 2004; 109: IV1–IV2.
4. Vuilleumier P., Decosterd D., Maillard M., Burnier M., Hayoz D. Postischemic forearm skin reactive hyperemia is related to cardiovascular risk factors in a healthy female population. *J. Hypertens.* 2002; 20: 1753–1757.
5. Mohammed I., Nonas S.A. Mechanisms, detection, and potential management of microcirculatory disturbances in sepsis. *Crit. Care Clin.* 2010; 26: 393–408.
6. Seal J.B., Gewertz B.L. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann. Vasc. Surg.* 2005; 19: 572–584.
7. Ito H. No-reflow phenomenon in patients with acute myocardial infarction: its pathophysiology and clinical implications. *Acta Med. Okayama* 2009; 63: 161–168.
8. Danese S., Vetrano S., Zhang L., Poplis V.A., Castellino F.J. The protein C pathway in tissue inflammation and injury: pathogenic role and therapeutic implications. *Blood* 2010; 115: 1121–1130.
9. De Backer D., Donadello K., Favory R. Link between coagulation abnormalities and microcirculatory dysfunction in critically ill patients. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 2009; 22: 150–154.
10. Guiducci S., Distler O., Distler J.H., Matucci-Cerinic M. Mechanisms of vascular damage in SSc — implications for vascular treatment strategies. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: v18–v20.
11. Donaghue K.C., Chiarelli F., Trotta D., Allgrove J., Dahl-Jorgensen K. Microvascular and macrovascular complications associated with diabetes in children and adolescents. *Pediatr. Diabetes* 2009; 10: S195–S203.
12. Le Dorze M., Legrand M., Payen D., Ince C. The role of the microcirculation in acute kidney injury. *Curr. Opin. Crit. Care* 2009; 15: 503–508.
13. Antonios T.F., Singer D.R., Markandu N.D., Mortimer P.S., MacGregor G.A. Structural skin capillary rarefaction in essential hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 998–1001.
14. Rizzoni D., Porteri E., Boari G.E. i wsp. Prognostic significance of small-artery structure in hypertension. *Circulation* 2003; 108: 2230–2235.
15. Jones A.E., Puskarich M.A. Sepsis-induced tissue hypoperfusion. *Crit. Care Clin.* 2009; 25: 769–779.
16. Knotzer H., Hasibeder W.R. Microcirculatory function monitoring at the bedside—a view from the intensive care. *Physiol. Meas.* 2007; 28: R65–R86.
17. Struijker-Boudier H.A.J., le Noble J.L.M.L., Messing M.W.J., Huijberts M.S.P., le Noble F.R.A.C., van Essen H. The microcirculation and hypertension. *J. Hypertens.* 1992; 10: S147–S156.
18. Levy B.I., Ambrosio G., Pries A.R., Struijker Boudier H.A.J. Microcirculation in hypertension. A new target for treatment? *Circulation* 2001; 104: 735–740.
19. Levy B.I., Schiffrin E.L., Mourad J.J. i wsp. Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation* 2008; 118: 968–976.
20. Gryglewska B., Nęcki M., Grodzicki T. Mikrokrążenie a nadciśnienie. *Nadciśnienie Tętnicze* 2001; 5: 229–234.
21. Guyton A.C., Hall J.E. Textbook of medical physiology. Elsevier Inc., Philadelphia 2006: 181–190.
22. Mulvany M.J., Aalkjaer C. Structure and function of small arteries. *Physiol. Rev.* 1990; 70: 921–961.
23. Mulvany M.J., Baumbach G.L., Aalkjaer C. i wsp. Vascular remodeling. *Hypertension* 1996; 28: 505–506.
24. Mulvany M.J. Small artery remodeling in hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 2002; 4: 49–55.
25. Pries A.R., Secomb T.W., Gachtgens P. Structural autoregulation of terminal vascular beds: vascular adaptation and development of hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 153–161.
26. Pries A.R., Werner J. Physiology of microcirculation. W: Struijker-Boudier H.A.J., Ambrosio G. (red.). Microcirculation and cardiovascular disease. Lippincott Williams & Wilkins, London 2000: 15–30.
27. Pries A.R. Physiology of microcirculation and organ perfusion. W: Levy B.I., Struijker-Boudier H.A.J. (red.). Role of micro- and macrocirculation in target organ damage in diabetes and hypertension. Blackwell Publishing Ltd., Oxford 2009: 14–30.
28. Guimaraes S., Moura D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol. Rev.* 2001; 53: 319–356.
29. Pries A.R., Secomb T.W., Gachtgens P. The endothelial surface layer. *Pflügers. Arch.* 2000; 440: 653–666.
30. DeLano F.A., Schmid-Schönbein G.W., Skalak T.C., Zweifach B.W. Penetration of the systemic blood pressure into the microvasculature of rat skeletal muscle. *Microvasc. Res.* 1991; 41: 92–110.
31. Letcher R.L., Chien S., Pickering T.G., Laragh J.H. Elevated blood viscosity in patients with borderline essential hypertension. *Hypertension* 1983; 5: 757–762.
32. Devereux R.B., Case D.B., Alderman M.H., Pickering T.G., Chien S., Laragh J.H. Possible role of increased blood viscosity in the hemodynamics of systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.* 2000; 85: 1265–1268.
33. de Simone G., Devereux R.B., Chien S., Alderman M.H., Atlas S.A., Laragh J.H. Relation of blood viscosity to demographic and physiologic variables and to cardiovascular risk factors in apparently normal adults. *Circulation* 1990; 81: 107–117.
34. Sandhagen B. Red cell fluidity in hypertension. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 1999; 21: 179–181.
35. Pries A.R., Neuhaus D., Gachtgens P. Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am. J. Physiol.* 1992; 263: H1770–H1778.
36. Rajzer M., Palka I., Kawecka-Jaszcz K. Znaczenie zjawiska lepkości krwi w patogenezie nadciśnienia tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2007; 11: 1–11.
37. Schmid-Schonbein G.W., Seiffge D., Delano F.A. Leukocyte count and activation in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Hypertension* 1991; 17: 323–330.
38. Davis M.J., Hill M.A. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol. Rev.* 1999; 79: 387–423.
39. Heagerty A.M., Aalkjaer C., Bund S.J., Korsgaard N., Mulvany M.J. Small artery structure in hypertension. Dual processes of remodeling and growth. *Hypertension* 1993; 21: 391–397.
40. Schiffrin E.L., Deng L.Y., Larochelle P. Blunted effects of endothelin upon small subcutaneous resistance arteries of mild essential hypertensive patients. *J. Hypertens.* 1992; 10: 437–444.

41. Korner P.I., Angus J.A. Structural determinants of vascular resistance properties in hypertension. *Haemodynamic and model analysis. J. Vasc. Res.* 1992; 29: 293–312.
42. Savoia C., Schiffrin E.L. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Clin. Sci. (Lond.)* 2007; 112: 375–384.
43. Intengan H.D., Schiffrin E.L. Vascular remodeling in hypertension: roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension* 2001; 38: 581–587.
44. Touyz R.M. Intracellular mechanisms involved in vascular remodelling of resistance arteries in hypertension: role of angiotensin II. *Exp. Physiol.* 2005; 90: 449–455.
45. de Cavanagh E.M., Ferder M., Insera F., Ferder L. Angiotensin II, mitochondria, cytoskeletal, and extracellular matrix connections: an integrating viewpoint. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009; 296: H550–H558.
46. Khavandi K., Greenstein A.S., Sonoyama K. i wsp. Myogenic tone and small artery remodelling: insight into diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; 24: 361–369.
47. Bakker E.N., van Der Meulen E.T., Spaan J.A., VanBavel E. Organoid culture of cannulated rat resistance arteries: effect of serum factors on vasoactivity and remodeling. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000; 278: H1233–H1240.
48. Zakrzewicz A., Secomb T.W., Pries A.R. Angioadaptation: keeping the vascular system in shape. *News Physiol. Sci.* 2002; 17: 197–201.
49. Prewitt R.L., Chen I.I., Dowell R. Development of microvascular rarefaction in the spontaneously hypertensive rat. *Am. J. Physiol.* 1982; 243: H243–H251.
50. Serné E.H., Gans R.O., ter Maaten J.C., Tangelder G.J., Donker A.J., Stehouwer C.D. Impaired skin capillary recruitment in essential hypertension is caused by both functional and structural capillary rarefaction. *Hypertension* 2001; 38: 238–242.
51. Sullivan J.M., Prewitt R.L., Josephs J.A. Attenuation of the microcirculation in young patients with high-output borderline hypertension. *Hypertension* 1983; 5: 844–851.
52. Paravicini T.M., Touyz R.M. Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc. Res.* 2006; 71: 247–258.
53. Dong Z., Zeitlin B.D., Song W. i wsp. Level of endothelial cell apoptosis required for a significant decrease in microvessel density. *Exp. Cell Res.* 2007; 313: 3645–3657.
54. Silvestre J.S., Lévy B.I., Tedgui A. Mechanisms of angiogenesis and remodelling of the microvasculature. *Cardiovasc. Res.* 2008; 78: 201–202.
55. Barker D.J. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin. Obstet. Gynecol.* 2006; 49: 270–283.
56. Muiesan M.L., Rizzoni D., Salvetti M. i wsp. Structural changes in small resistance arteries and left ventricular geometry in patients with primary and secondary hypertension. *J. Hypertens.* 2002; 20: 1439–1444.
57. Grey E., Bratteli C., Glasser S.P. i wsp. Reduced small artery but not large artery elasticity is an independent risk marker for cardiovascular events. *Am. J. Hypertens.* 2003; 16: 265–269.
58. Braverman I.M. The cutaneous microcirculation. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 2000; 5: 3–9.
59. Charkoudian N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. *Mayo Clin. Proc.* 2003; 78: 603–612.
60. Delius W., Hagbarth K.E., Hongell A., Wallin B.G. Manoeuvres affecting sympathetic outflow in human skin nerves. *Acta Physiol. Scand.* 1972; 84: 177–186.
61. Christen S., Delachaux A., Dischl B. i wsp. Dose-dependent vasodilatory effects of acetylcholine and local warming on skin microcirculation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2004; 44: 659–664.
62. Arildsson M., Asker C.L., Salerud E.G., Strömberg T. Skin capillary appearance and skin microvascular perfusion due to topical application of analgesia cream. *Microvasc. Res.* 2000; 59: 14–23.
63. Kellogg D.L. Jr, Liu Y., Kosiba I.F., O'Donnell D. Role of nitric oxide in the vascular effects of local warming of the skin in humans. *J. Appl. Physiol.* 1999; 86: 1185–1190.
64. Minson C.T., Berry L.T., Joyner M.J. Nitric oxide and neurally mediated regulation of skin blood flow during local heating. *J. Appl. Physiol.* 2001; 91: 1619–1626.
65. Cracowski J.L., Minson C.T., Salvat-Melis M., Halliwill J.R. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol. Sci.* 2006; 27: 503–508.
66. Berardesca E., Lévêque J.L., Masson P.; European Group for Efficacy Measurements on Cosmetics and Other Topical Products (EEMCO Group). EEMCO guidance for the measurement of skin microcirculation. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 2002; 15: 442–456.
67. Antonios T.F., Singer D.R., Markandu N.D., Mortimer P.S., MacGregor G.A. Study of skin capillaries in essential hypertension using sodium fluorescein angiography and videomicroscopy. *Hypertension* 1998; 32: 790.
68. Fullerton A., Stücker M., Wilhelm K.P. i wsp.; European Society of Contact Dermatitis Standardization Group. Guidelines for visualization of cutaneous blood flow by laser Doppler perfusion imaging. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis based upon the HIRELADO European community project. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 129–140.
69. Tooke J.E., Ostergren J., Fagrell B. Synchronous assessment of human skin microcirculation with laser Doppler flowmetry and dynamic capillaroscopy. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1983; 2: 277–284.
70. Nilsson G.E., Tenland T., Oeberg P.A. Evaluation of laser Doppler flowmeter for measurements of tissue blood flow. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1980; 27: 597–604.
71. Stücker M., Steinberg J., Memmel U., Avermaete A., Hoffmann K., Altmeyer P. Differences in the two-dimensionally measured laser Doppler flow at different skin localisations. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 2001; 14: 44–51.
72. Grodzicki T., Nęcki M., Cwynar M., Gryglewska B. Laserowa przepływometria dopplerowska — powtarzalność metody. *Przegl. Lek.* 2003; 60: 89–91.
73. Kubli S., Waeber B., Dalle-Ave A., Feihl F. Reproducibility of laser Doppler imaging of skin blood flow as a tool to assess endothelial function. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000; 36: 640–648.
74. Agarwal S.C., Allen J., Murray A., Purcell I.F. Comparative reproducibility of dermal microvascular blood flow changes in response to acetylcholine iontophoresis, hyperthermia and reactive hyperaemia. *Physiol. Meas.* 2010; 31: 1–11.
75. Moens A.L., Goovaerts I., Claes M.J., Vrints C.J. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest* 2005; 127: 2254–2263.
76. Corretti M.C., Anderson T.J., Benjamin E.J. i wsp.; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the Inter-

national Brachial Artery Reactivity Task Force. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 39: 257–265.

77. Sorensen K.E., Celermajer D.S., Spiegelhalter D.J. i wsp. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br. Heart J.* 1995; 74: 247–253.

78. Binggeli C., Spieker L.E., Corti R. i wsp. Statins enhance postischemic hyperemia in the skin circulation of hypercholesterolemic patients: a monitoring test of endothelial dysfunction for clinical practice? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 42: 71–77.

79. Larkin S.W., Williams T.J. Evidence for sensory nerve involvement in cutaneous reactive hyperemia in humans. *Circ. Res.* 1993; 73: 147–154.

80. Zhao J.L., Pergola P.E., Roman L.J., Kellogg D.L. Jr. Bioactive nitric oxide concentration does not increase during reactive hyperemia in human skin. *J. Appl. Physiol.* 2004; 96: 628–632.

81. Wollersheima H., Netten P.M., Lutterman J.A., Lenders J.W.M. Ephedrine improves microcirculation in the diabetic neuropathic foot. *Angiology* 1989; 40: 1030–1034.

82. Tochowicz L. Przebieg i podział kliniczny choroby nadciśnieniowej. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1953; 30: 695–700.

83. Charkoudian N., Johnson J.M. Reflex control of cutaneous vasoconstrictor system is reset by exogenous female reproductive hormones. *J. Appl. Physiol.* 1999; 87: 381–385.

84. Johnson J.M., Yen T.C., Zhao Y., Kosiba W.A. Sympathetic, sensory, and nonneural contributions to the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling. *Am. J. Physiol.* 2005; 288: H1573–H1579.

85. Wigington G., Ngo B., Rendell M. Skin blood flow in diabetic dermopathy. *Arch. Dermatol.* 2004; 140: 1248–1250.

86. Medow M.S., Minson C.T., Stewart J.M. Decreased microvascular nitric oxide-dependent vasodilation in postural tachycardia syndrome. *Circulation* 2005; 112: 2611–2618.

87. Nicotra A., Asahina M., Mathias C.J. Skin vasodilator response to local heating in human chronic spinal cord injury. *Eur. J. Neurol.* 2004; 11: 835–837.

88. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 37–36.

89. Brain S.D., Grant A.D. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiol. Rev.* 2004; 84: 903–934.

90. Berghoff M., Kathpal M., Kilo S., Hilz M.J., Freeman R. Vascular and neural mechanisms of Ach-mediated vasodilation in the forearm cutaneous microcirculation. *J. Appl. Physiol.* 2002; 92: 780–788.

91. Harrison S., Geppetti P. Substance P. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2001; 33: 555–576.

92. Berliner M.N. Skin microcirculation during tapwater iontophoresis in humans: cathode stimulates more than anode. *Microvasc. Res.* 1997; 54: 74–80.

93. Gross C.G. Claude Bernard and the constancy of the internal environment. *Neuroscientist* 1998; 4: 380–385.

94. Trzebski A. Homeodynamics versus homeostasis: periodicities superimposed on non-linear dynamic sympathetic tone generated in ventral medulla. *Acta Neurobiol. Exp.* 1994; 54: 109–125.

95. Yates F.E. Order and complexity in dynamical systems: homeodynamics as a generalized mechanics for biology. *Math. Comp. Model.* 1994; 19: 49–74.

96. Accurso V., Shamsuzzaman A.S., Somers V.K. Rhythms, rhymes, and reasons — spectral oscillations in neural cardiovascular control. *Auton. Neurosci.* 2001; 90: 41–46.

97. Bray M.S., Young M.E. The role of cell-specific circadian clocks in metabolism and disease. *Obes. Rev.* 2009; 10 (supl. 2): 6–13.

98. Curtis A.M., Fitzgerald G.A. Central and peripheral clocks in cardiovascular and metabolic function. *Ann. Med.* 2006; 38: 552–559.

99. Maemura K., Takeda N., Nagai R. Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: role of the biological clock in cardiovascular diseases. *J. Pharmacol. Sci.* 2007; 103: 134–138.

100. Smolensky M.H., Haus E. Circadian rhythms and clinical medicine with applications to hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2001; 14: 280S–290S.

101. Eke A., Herman P., Kocsis L., Kozak L.R. Fractal characterization of complexity in temporal physiological signals. *Physiol. Meas.* 2002; 23: R1–R38.

102. Glenny R.W.H., Robertson T., Yamashiro S., Bassingthwaite J.B. Applications of fractal analysis to physiology. *J. Appl. Physiol.* 1991; 70: 2351–2367.

103. Cross S.S. Fractals in pathology. *J. Pathol.* 1997; 182: 1–8.

104. Goldberger A.L. Non-linear dynamics for clinicians: chaos theory, fractals, and complexity at the bedside. *Lancet* 1996; 347: 1312–1314.

105. Korolev S.E., Solov'ev V.V., Tumanian V.G. A new method of global search for functional DNA segments using a fractal representation of nucleotide texts. *Biofizika* 1992; 37: 837–847.

106. Xu J., Chao Y., Chen R. Fractal geometry study of DNA binding proteins. *J. Theor. Biol.* 1994; 171: 239–249.

107. West G.B., Brown J.H., Enquist B.J. The fourth dimension of life: fractal geometry and allometric scaling of organisms. *Science* 1999; 284: 167–169.

108. Losa G.A. The fractal geometry of life. *Riv. Biol.* 2009; 102: 29–59.

109. Liu J.Z., Zhang L.D., Yue G.H. Fractal dimension in human cerebellum measured by magnetic resonance imaging. *Biophys. J.* 2003; 85: 4041–4046.

110. Claridge E., Hall P.N., Keefe M., Allen J.P. Shape analysis for classification of malignant melanoma. *J. Biomed. Eng.* 1992; 14: 229–234.

111. Vidal S., Horvath E., Kovacs K., Lloyd R.V., Scheithauer B.W. Microvascular structural entropy: a novel approach to assess angiogenesis in pituitary tumors. *Endocr. Pathol.* 2003; 14: 239–247.

112. Kalliokoski K.K., Kuusela T.A., Laaksonen M.S., Knuuti J., Nuutila P. Muscle fractal vascular branching pattern and microvascular perfusion heterogeneity in endurance-trained and untrained men. *J. Physiol.* 2003; 546: 529–535.

113. Bauer W.R., Hiller K.H., Galuppo P. i wsp. Fast high-resolution magnetic resonance imaging demonstrates fractality of myocardial perfusion in microscopic dimensions. *Circ. Res.* 2001; 88: 340–346.

114. Grant P.E., Lumsden C.J. Fractal analysis of renal cortical perfusion. *Invest. Radiol.* 1994; 29: 16–23.

115. Huikuri H.V., Perkiömäki J.S., Maestri R., Pinna G.D. Clinical impact of evaluation of cardiovascular control by novel methods of heart rate dynamics. *Philos Transact A Math. Phys. Eng. Sci.* 2009; 367: 1223–1238.

116. Lantelme P., Milon H., Gharib C., Trémeau G., Fortrat J.O. Fractal analysis and arterial hypertension. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 1999; 92: 1121–1125.

117. Nilsson H., Aalkjaer C. Vasomotion: mechanisms and physiological importance. *Mol. Interv.* 2003; 3: 79–89.

118. Intaglietta M. Vasomotion as normal microvascular activity and a reaction to impaired homeostasis. *Prog. Appl. Microcirc.* 1989; 15: 1–9.

119. Haddock R.E., Hill C.E. Rhythmicity in arterial smooth muscle. *J. Physiol.* 2005; 566: 645–656.
120. Kutcher M.E., Herman I.M. The pericyte: cellular regulator of microvascular blood flow. *Microvasc. Res.* 2009; 77: 235–246.
121. Yudkin J.S., Eringa E., Stehouwer C.D. "Vasocrine" signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet* 2005; 365: 1817–1820.
122. Stefanovska A., Kroselj P. Correlation integral and frequency analysis of cardiovascular functions. *Open Syst. Inf. Dyn.* 1997; 4: 457–478.
123. Schmidt J.A., Borgström P., Intaglietta M. The vascular origin of slow wave flowmotion in skeletal muscle during local hypotension. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1993; 12: 287–297.
124. Fagrell B. Dynamics of skin microcirculation in humans. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1985; 7 (supl. 3): S53–S58.
125. Griffith T.M. Temporal chaos in the microcirculation. *Cardiovasc. Res.* 1996; 31: 342–358.
126. Stefanovska A., Bracic M., Kvernmo K. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1999; 46: 1230–1239.
127. Kvernmo H.D., Stefanovska A., Bracic M., Kirkeboen K.A., Kvernebo K. Spectral analysis of laser Doppler perfusion signal in human skin before and after exercise. *Microvasc. Res.* 1998; 56: 173–182.
128. Rossi M., Carpi A., Galetta F., Franzoni F., Santoro G. The investigation of skin blood flowmotion: a new approach to study the microcirculatory impairment in vascular diseases? *Biomed. Pharmacother.* 2006; 60: 437–442.
129. Kvandal P., Landsverk S.A., Bernjak A., Stefanovska A., Kvernmo H.D., Kirkeboen K.A. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin. *Microvasc. Res.* 2006; 72: 120–127.
130. Kvandal P., Stefanovska A., Veber M., Kvernmo H.D., Kirkeboen K.A. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines. *Microvasc. Res.* 2003; 65: 160–171.
131. Kvernmo H.D., Stefanovska A., Kirkeboen K.A. Enhanced endothelial activity reflected in cutaneous blood flow oscillations of athletes. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2003; 90: 16–22.
132. Carolan-Rees G., Tweddel A.C., Naka K.K., Griffith T.M. Fractal dimensions of laser doppler flowmetry time series. *Med. Eng. Phys.* 2002; 24: 71–76.
133. Bassingthwaite J.B., Raymond G.M. Evaluation of dispersional analysis method for fractal time series. *Ann. Biomed. Eng.* 1995; 23: 491–505.
134. Parthimos D., Edwards D.H., Griffith T.M. Comparison of chaotic and sinusoidal vasomotion in the regulation of microvascular flow. *Cardiovasc. Res.* 1996; 31: 388–399.
135. Khan F., Litchfield S.J., Stonebridge P.A., Belch J.J. Lipid-lowering and skin vascular responses in patients with hypercholesterolaemia and peripheral arterial obstructive disease. *Vasc. Med.* 1999; 4: 233–238.
136. Carberry P.A., Shepherd A.M., Johnson J.M. Resting and maximal forearm skin blood flows are reduced in hypertension. *Hypertension* 1992; 20: 349–355.
137. Rossi M., Taddei S., Fabbri A. i wsp. Cutaneous vasodilation to acetylcholine in patients with essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1997; 29: 406–411.
138. Rossi M., Carpi A., Di Maria C., Galetta F., Santoro G. Absent post-ischemic increase of blood flowmotion in the cutaneous microcirculation of healthy chronic cigarette smokers. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2007; 36: 163–171.
139. Abahji T.N., Nill L., Ide N., Keller C., Hoffmann U., Weiss N. Acute hyperhomocysteinemia induces microvascular and macrovascular endothelial dysfunction. *Arch. Med. Res.* 2007; 38: 411–416.
140. Holowatz L.A., Thompson C.S., Minson C.T., Kenney W.L. Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin. *J. Physiol.* 2005; 563: 965–973.
141. Sokolnicki L.A., Roberts S.K., Wilkins B.W., Basu A., Charkoudian N. Contribution of nitric oxide to cutaneous microvascular dilation in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006; 292: E314–E318.
142. Stewart J., Kohen A., Brouder D. i wsp. Noninvasive interrogation of microvasculature for signs of endothelial dysfunction in patients with chronic renal failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004; 287: H2687–H2696.
143. Shamim-Uzzaman Q.A., Pfenninger D., Kehrer C. i wsp. Altered cutaneous microvascular responses to reactive hyperemia in coronary artery disease: a comparative study with conduit vessel responses. *Clin. Sci. (Lond.)* 2002; 103: 267–273.
144. Cui J., Arbab-Zadeh A., Prasad A., Durand S., Levine B.D., Crandall C.G. Effects of heat stress on thermoregulatory responses in congestive heart failure patients. *Circulation* 2005; 112: 2286–2292.
145. Rossi M., Carpi A. Skin microcirculation in peripheral arterial obliterative disease. *Biomed. Pharmacother.* 2004; 58: 427–431.
146. Panza J.A., Quyyumi A.A., Brush J.E. Jr, Epstein S.E. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323: 22–27.
147. Farkas K., Kolossvary E., Jarai Z., Nemcsik J., Farsang C. Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser Doppler flowmetry in patients with essential hypertension. *Atherosclerosis* 2004; 173: 97–102.
148. Holowatz L.A., Kenney W.L. Up-regulation of arginase activity contributes to attenuated reflex cutaneous vasodilatation in hypertensive humans. *J. Physiol.* 2007; 581: 863–872.
149. Nęcki M., Gryglewska B., Wizner B., Gąsowski J., Grodzicki T. Zmiany czynnościowe w mikrokrążeniu w pierwotnym nadciśnieniu tętniczym. *Nadciśnienie Tętnicze* 2005; 9: 443–451.
150. Taddei S., Virdis A., Mattei P., Natali A., Ferrannini E., Salvetti A. Effect of insulin on acetylcholine-induced vasodilation in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation* 1995; 92: 2911–2918.
151. Cockcroft J.R., Chowienzyk P.J., Benjamin N., Ritter J.M. Preserved endothelium-dependent vasodilatation in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1994; 330: 1036–1040.
152. Rossi M., Carpi A., Di Maria C., Galetta F., Santoro G. Spectral analysis of laser Doppler skin blood flow oscillations in human essential arterial hypertension. *Microvasc. Res.* 2006; 72: 34–41.
153. Rossi M., Maurizio S., Carpi A. Skin blood flowmotion response to insulin iontophoresis in normal subjects. *Microvasc. Res.* 2005; 70: 17–22.
154. Rossi M., Ricco R., Carpi A. Spectral analysis of skin laser Doppler blood perfusion signal during cutaneous hyperemia in response to acetylcholine iontophoresis and ischemia in normal subjects. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2004; 31: 303–310.